نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۶، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷، ص. ۱۴-۱

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 16, No. 1, Spring. 2018, p. 1-14

حداکثر کارایی فتوسیستم II به‌عنوان شاخصی از خسارت یخ‌زدگی در اکوتیپ‌های چاودار (*Secale montanum*) چندساله

احمد نظامی[1*]- سعید خانی نژاد[2]- محمودرضا بهرامی[2]- حامد ظریف کتابی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۰۵

چکیده

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل روشی سریع و غیر تخریبی است که به‌عنوان شاخصی مهم برای شناسایی ارقام متحمل به تنش‌های محیطی ازجمله تنش یخزدگی مورد استفاده قرار گرفته است. به‌منظور بررسی امکان استفاده از پارامترهای فلورسانس کلروفیل در ارزیابی تحمل اکوتیپ‌های چندساله چاودار به تنش یخزدگی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. عامل‌های مورد مطالعه شامل ۱۰ اکوتیپ چاودار (۲۶۴، ۹۴۱، ۸۴۲۵، ۱۵۷۷۱، ۱۵۸۷، ۱۴۹۴۷، ۵۹۱، ۱۲۷۵، ۳۸۵۷ و ۱۲۶۴۰)، ۹ دمای یخزدگی (۰، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸-، ۲۱- و ۲۴- درجه سانتی‌گراد) و چهار مرحله اندازه‌گیری حداکثر کارایی فتوسیستم II در دوره‌ی بازیابی گیاه پس از اعمال تنش یخزدگی (۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت) بودند. حداکثر کارایی فتوسیستم II در گیاهچه‌های چاودار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اکوتیپ‌های چاودار تا دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد از نظر حداکثر کارایی فتوسیستم II تفاوت معنی‌داری نداشتند، اما در دماهای ۲۱- و ۲۴- درجه سانتی‌گراد و با گذشت زمان بازیابی از ۱۲ به ۲۴ ساعت حداکثر کارایی فتوسیستم II کاهش یافت. از نظر دمای کاهنده ۵۰ درصد حداکثر کارایی فتوسیستم II بین اکوتیپ‌های چاودار تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به‌طوری‌که در ۱۲ ساعت بعد از اعمال تنش یخزدگی اکوتیپ ۱۲۶۴۰ در دمای ۲۴/۸- درجه سانتی‌گراد به ۵۰ درصد کاهش حداکثر کارایی فتوسیستم II خود رسید و اکوتیپ ۲۶۴ و ۹۴۱ نیز به‌ترتیب با ۲۰/۲- و۲۰- درجه سانتی‌گراد بالاترین دمای کاهنده ۵۰ درصد حداکثر کارایی فتوسیستم II را دارا بودند. بین حداکثر کارایی فتوسیستم II با درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقا همبستگی معنی‌داری وجود داشت که نشان‌دهنده پتانسیل مناسب شاخص مذکور برای تشخیص سریع ارقام حساس و متحمل به تنش یخزدگی در چاودار می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تحمل به سرما، درصد بقا، فلورسانس کلروفیل، نشت الکترولیت‌ها

مقدمه

بخش زیادی از غلات سردسیری کشور در مناطق سرد کوهستانی و دامنه‌ها کشت می‌شوند (Mahfoozi *et al*., 2008)، در شرایط مذکور این گیاهان قادرند از طریق برخی ساز و کارهای فیزیولوژیکی با سرما سازگار شده و تحمل به انجماد خود را افزایش دهند (Fowler *et al*., 2001). با این حال افت شدید و ناگهانی دمای هوا، قبل از سازگاری گیاه با سرما می‌تواند منجر به از بین رفتن گیاه شود. علاوه بر آن کاهش شدید دما به پایین‌تر از حد آستانه‌ی تحمل انجماد در گیاه طی زمستان، می‌تواند صدمات شدید را برای گیاهان در پی داشته و منجر به افت عملکرد گیاه گردد (Mahfoozi *et al*., 2008). بنابراین تحمل گیاهان به تنش سرما یکی از عوامل ضروری جهت بقاء زمستانه، رشد و تولید مناسب گیاهان ذکر شده است (Nezami *et al*., 2007).

چاودار (*Secale montanum*) در بسیاری از کشورهای دنیا ازجمله لهستان، روسیه، آلمان، چین و اوکراین به‌عنوان یک گیاه زراعی کشت می‌شود (Behnia, 1994). این گیاه از جمله غلاتی است که می‌تواند جهت تهیه نان مورد استفاده قرار گیرد و همچنین به‌عنوان علوفه سبز، علوفه خشک و سیلو در تغذیه دام‌ها استفاده می‌شود. از مهم‌ترین ویژگی چاودار رشد آن در مناطق سرد و اراضی

۱- استاد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲- دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: nezami@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/gsc.v16i1.43975

فقیر و همچنین مناطقی با خاک‌های سبک است (Nourmohamadi *et al*., 1998). علی‌رغم این، کشت چاودار در ایران در مقایسه با غلات سرمادوست دیگری مانند گندم و جو کمتر رایج است، ولی وجود پتانسیل مناسب این گیاه جهت رشد در محیط‌های تحت تنش به‌ویژه تنش سرما، تحقیقات بیشتر بر روی آن را ضروری می‌سازد. زیرا دمای پایین فعالیت‌های فیزیولوژیکی را در گیاه مختل کرده و باعث آسیب‌های برگشت‌ناپذیر و اختلال در فرآیندهای رشدی گیاه می‌شود (Ingram and Bartels, 1996).

در اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی استفاده از تکنیک فلورسانس کلروفیل، عنوان یک روش سریع، حساس و غیرتخریبی مورد توجه قرار دارد (Maxwell and Johnson, 2000). در حقیقت فلورسانس کلروفیل می‌تواند کاهش در سلامت اولیه گیاه را قبل از این‌که نشانه‌های زوال در آن آشکار شود، نشان دهد. خصوصیات فلورسانس کلروفیل به‌صورت غیرمستقیم نشان‌دهنده سلامت (سیالیت، ثبات و انسجام) غشاءهای فتوسنتزی می‌باشد (Hakam *et al*., 2000) و از آن‌جایی‌که در گیاهان فتوسیستم II نقش مهمی در پاسخ فعالیت‌های فتوسنتز به تنش‌های محیطی ایفا می‌کند، استفاده از تکنیک فلورسانس کلروفیل برای ارزیابی واکنش گیاهان به تنش‌های محیطی از اهمیت خاصی برخوردار است (Percival and Henderson, 2003). در همین راستا اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل به‌عنوان شاخصی از تحمل به سرما در جو زمستانه (Rapacz *et al*., 2008)، یولاف (Rizza *et al*., 2001) و جو بهاره (Francia *et al*., 2004) مورد استفاده قرار گرفته است. زمانی‌که گیاهان در معرض تنش سرما قرار می‌گیرند، متابولیسم برگ‌ها به شدت کاهش یافته و فتوسیستم II شدیداً خسارت می‌بیند و به دنبال آن حداکثر کارایی فتوسیستم II (که برای یک گیاه سالم بین ۰/۷۵ تا ۰/۸۵ می‌باشد)، کاهش می‌یابد (Mena-Petite *et al*., 2005). در بررسی اثرات تنش یخزدگی بر روی گیاه گندم مشاهده شد که با کاهش دما به کمتر از دمای ۸- درجه سانتی‌گراد حداکثر کارایی فتوسیستم II به شدت کاهش یافت (Mam and Philip, 1996). اندازه‌گیری حداکثر کارایی فتوسیستم II به‌عنوان شاخصی از اثرات تنش یخزدگی در چغندرقند (*Beta vulgaris*) نشان داد که افزایش شدت تنش یخزدگی کاهش حداکثر کارایی فتوسیستم II را در پی داشت (Jalilian *et al*., 2008). دای و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش کردند که اعمال تنش یخزدگی بر گیاه جو حداکثر کارایی فتوسیستم II را به شدت کاهش داد، با وجود این پس از دو ساعت بازیابی، حداکثر کارایی فتوسیستم II به حدود ۵۰ درصد تیمار شاهد (تیمار عدم یخزدگی) و پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت به‌ترتیب به ۶۴ و ۸۲ درصد تیمار شاهد رسید. نئونر و بوچنر (۱۹۹۹) بررسی فلورسانس کلروفیل بر روی بخش‌هایی از گیاه *Rhododendron ferrugineum* که دچار یخزدگی شده بود را به‌عنوان پارامتری جهت تخمین میزان خسارت سرما بر شمردند. بیندر و فیلدر (۱۹۹۶) ۲۴ ساعت بعد از اعمال تنش یخزدگی روی صنوبر از ابزار فلورسانس کلروفیل برای ارزیابی میزان تنش استفاده کردند و بیان نمودند که تأثیر یخزدگی روی فلورسانس کلروفیل بستگی به مرحله خوسرمایی و دمای یخزدگی دارد. در خصوص تحمل به سرما در اکوتیپ‌های چاودار چندساله اطلاعات چندانی در دسترس نمی‌باشد، لذا این مطالعه با هدف امکان استفاده از شاخص حداکثر کارایی فتوسیستم II، به‌عنوان یک روش غیر تخریبی و سریع، در ارزیابی تحمل به تنش یخزدگی اکوتیپ‌های چاودار اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. عامل‌های مورد مطالعه شامل ۱۰ اکوتیپ چاودار چندساله تهیه شده از بخش تحقیقات نهال و بذر مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی (۲۴۶، ۵۹۱، ۹۴۱، ۱۲۷۵، ۱۵۸۷، ۳۸۵۷، ۸۴۲۵، ۱۲۶۴۰، ۱۴۹۴۷ و ۱۵۷۷۱)، ۹ دمای یخزدگی (۰، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸-، ۲۱- و ۲۴- درجه سانتی‌گراد) و چهار مرحله اندازه‌گیری حداکثر کارایی فتوسیستم II در دوره‌ی بازیابی گیاه پس از اعمال تنش یخزدگی (۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت) بودند. منشأ این اکوتیپ‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. در اوایل آبان ماه، هشت بذر چاودار در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۰ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و در عمق ۲-۱ سانتی‌متری بستر کشت کاشته شدند. خاک گلدان‌ها از نسبت‌های یکسان خاکبرگ، شن و خاک زراعی تشکیل شده بود. پس از سبز شدن و استقرار گیاهچه‌ها، تعداد بوته‌ها به پنج عدد تقلیل یافت. جهت اعمال خوسرمایی بوته‌ها تا مرحله شش تا هشت برگی در محیط طبیعی نگهداری شدند و سپس در معرض تنش یخزدگی قرار داده شدند.

گلدان‌ها ۲۴ ساعت قبل از اعمال یخزدگی آبیاری شدند و سپس جهت اعمال تیمارهای دمایی به فریزر ترموگرادیان انتقال یافتند. دمای فریزر در شروع آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن گلدان‌ها در داخل فریزر با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به‌منظور ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها، در دمای ۲/۵- درجه سانتی‌گراد محلول حاوی باکتری‌های القاءکننده هستک یخ INAB[1] روی برگ‌ها به نحوی پاشیده شد که سطح گیاه را قشری از این محلول پوشانده و تقریباً خیس شدند. جهت ایجاد تعادل در دمای محیط گیاهان در هر تیمار دمایی به مدت یک ساعت باقی مانده و پس از آن جهت کاهش سرعت ذوب بلافاصله به داخل اتاقک‌های

1- Ice nucleation active bacteria

رشد با دمای ۲±۵ درجه سانتی‌گراد انتقال یافته و به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری شدند. پس از طی این مدت، بوته‌ها به شاسی سرد منتقل شدند.

حداکثر کارایی فتوسیستم II به‌وسیله دستگاه فلورومتر (OS1-FL Chlorophyll Fluorometer) روی جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه‌یافته، اندازه‌گیری شد. به منظور تعیین درصد نشت الکترولیت‌ها ابتدا جوان‌ترین دو برگ کاملاً توسعه‌یافته از هر بوته جدا شد و در ویال‌های حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار گرفتند. ویال‌های حاوی نمونه‌های گیاهی به مدت ۲۴ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شده و سپس هدایت الکتریکی آنها با استفاده از EC متر مدل Jenway اندازه‌گیری شد (EC_1). در مرحله بعد ویال‌های حاوی نمونه‌های گیاهی به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۰درجه و فشار ۳ بار قرار داده شدند. سپس ویال‌ها از اتوکلاو خارج شده و پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در شرایط آزمایشگاه درصد نشت الکترولیت‌ها اندازه‌گیری شد (EC_2). درصد نشت الکترولیت‌ها از معادله ۱ محاسبه شد.

$$\%EC = (EC_1/EC_2) \times 100 \quad (۱)$$

روز بعد از اعمال دماهای یخزدگی، گلدان‌ها به شاسی سرد منتقل شده و بعد از چهار هفته درصد بقا (معادله ۲) تعیین شد.

(۲) [۱۰۰× (تعداد بوته‌ها قبل از یخزدگی/ تعداد بوته‌ها چهار هفته بعد از یخزدگی)] = درصد بقا

جهت بررسی رابطه بین دمای یخزدگی (T_f) و حداکثر کارآیی فتوسیستم II از مدل دو قطعه‌ای خطی[1] استفاده شد (معادله ۳):

$$Y = C \qquad \text{if } T_f \le T_o$$
$$Y = b\,(T_c - T) \qquad \text{if } T_f > T_o \quad (۳)$$

که در آن C حداکثر کارآیی مشاهده شده، T_o آستانه درجه حرارت انجماد برای حفظ حداکثر کارآیی، b شیب کاهش کارآیی با کاهش درجه حرارت انجماد و T_c حداقل دمای انجماد برای توقف کارکرد فتوسیستم II می‌باشند. برازش با استفاده از نرم‌افزار Sigma Stat ver.2.0 انجام شد.

جهت تجزیه آماری از نرم‌افزار Minitab 16، برای تعیین دمای کاهنده ۵۰ درصد حداکثر کارایی از نرم‌افزار Slide Write و برای رسم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها نیز به روش آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که در بین اکوتیپ‌های چاودار از نظر حداکثر کارایی فتوسیستم II پس از تنش سرما اختلاف معنی‌داری ($p \le ۰/۰۰۱$) وجود داشت، به‌طوری‌که اکوتیپ ۱۲۶۴۰ حداکثر کارایی فتوسیستم II را دارا بود و کمترین مقدار آن در اکوتیپ ۲۶۴ مشاهده شد (شکل ۱). بررسی راپاکز (۲۰۰۷) بر روی سه رقم گندم زمستانه نیز نشان داد که از نظر حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II بعد از تنش یخزدگی بین ارقام مورد بررسی تفاوت وجود داشت و ارقام Tonacja و Clever به‌ترتیب بالاترین و کمترین مقدار این شاخص را داشتند. در صورتی‌که در ساعات اولیه تنش اختلاف معنی‌داری بین ارقام مشاهده نشده بود. ایشان اختلاف بین حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ارقام گندم را نتیجه تفاوت ژنتیکی آنها در واکنش به تنش یخزدگی دانست.

جدول ۱- منشاء اکوتیپ‌های چاودار
Table 1- Origin of rye ecotypes

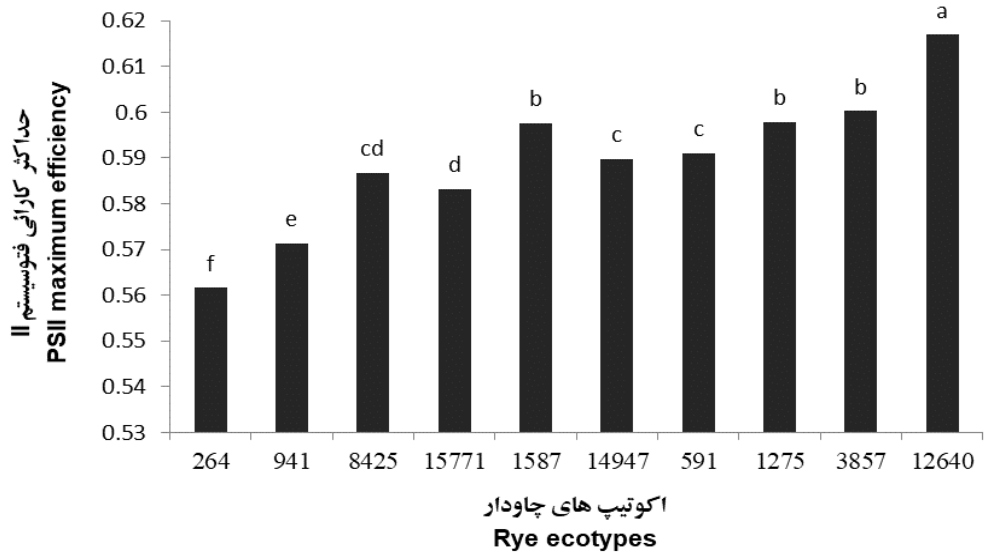
ردیف No	اکوتیپ Ecotype	منشاء Origin
1	264	قزوین (Qazvin)
2	591	گرگان (Gorgan)
3	941	اصفهان (Isfahan)
4	1275	شهرکرد (Shahr Kord)
5	1587	کرج (Karaj)
6	3857	سمنان (Semnan)
7	8420	اراک (Arak)
8	12640	سمنان (Semnan)
9	14947	اراک (Arak)
10	15771	کرج (Karaj)

بررسی میانگین حداکثر کارایی فتوسیستم II در چاودار طی دوره‌های زمانی مورد مطالعه نشان داد که تا ۴۸ ساعت بعد از اعمال تنش یخزدگی میزان این کارایی کاهش داشت و بعد از آن تقریباً ثابت ماند (شکل ۲). لیانگ و همکاران (۲۰۰۷) در گیاهچه‌های *Jatropha curcas* مشاهده کردند که تنش سرما بعد از ۶ و ۱۲ ساعت تأثیری بر حداکثر کارایی فتوسیستم II نداشت اما بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت مقدار آن را به شدت کاهش داد. نامبردگان اظهار داشتند که این کاهش ممکن است به‌دلیل کاهش ظرفیت فتوسیستم II و بازدارندگی در انتقال الکترون در زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تنش باشد.

در بررسی روند حداکثر کارایی فتوسیستم II در گیاهان چاودار قرار گرفته در معرض دماهای یخزدگی مشاهده شد که شیب کاهش این صفت در ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش یخزدگی کمتر از سایر زمان‌های اندازه‌گیری بود (شکل ۳ الف و جدول ۲). علاوه بر این در زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش یخزدگی، دمای به صفر رسیدن حداکثر کارایی فتوسیستم II به‌ترتیب ۲۶/۱- و ۲۴ درجه سانتی‌گراد بود، در صورتی‌که در زمان ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از اعمال

1- Bilinear segmented model

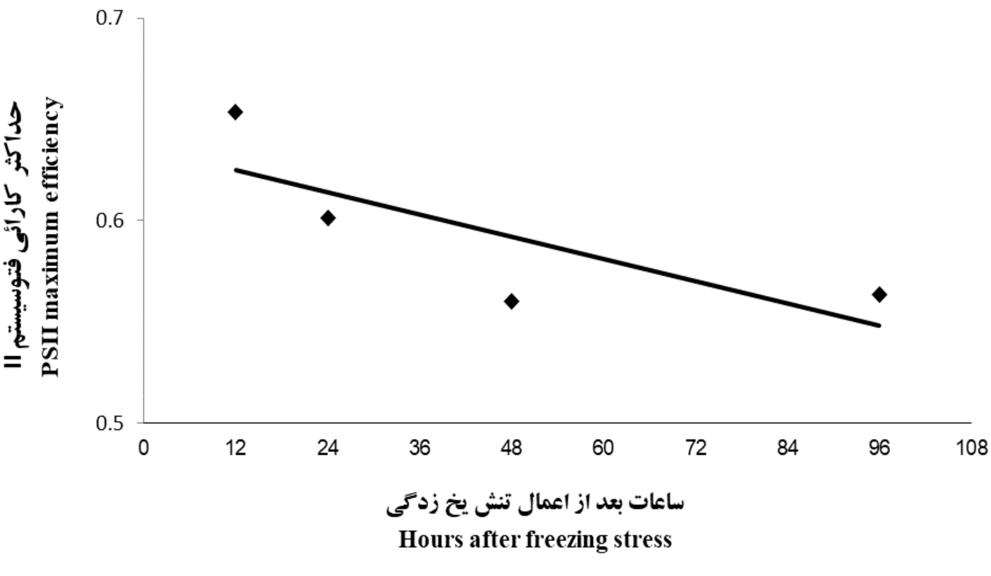
تنش یخزدگی این کارایی در دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد بـه حـداقل رسید (جدول ۲). روند تغییرات حداکثر کـارایی فتوسیسـتم II تحـت تأثیر دماهای یخزدگی در زمان‌های ۴۸ و ۹۶ ساعت بسیار مشابه بـود و به‌نظر رسید که پس از زمان ۴۸ ساعت تغییراتی در حداکثر کـارایی فتوسیستم II ایجاد نشـده اسـت (شـکل ۳ پ و ت). راپـاکز (۲۰۰۷) گزارش کرد که در ارقام گندم زمستانه قبل از اعمال تنش یخزدگی از نظر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II تفاوت چندانی وجود نداشت، اما بلافاصله بعد از تنش یخزدگی مقدار این شاخص کاهش یافت.



شکل ۱- میانگین حداکثر کارایی فتوسیستم II در اکوتیپ‌های چاودار بعد از تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده

(میانگین‌های دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

Figure 1- Mean of PSII maximum efficiency in rye ecotypes after freezing stress in controlled conditions (Means with the same letters, indicated significant difference at 5% probability level.)



شکل ۲- میانگین حداکثر کارایی فتوسیستم II در اکوتیپ‌های چاودار طی دوره‌های زمانی پس از اعمال تنش یخزدگی در شرایط کنترل‌شده (هرنقطه میانگین ۹۰ عدد است).

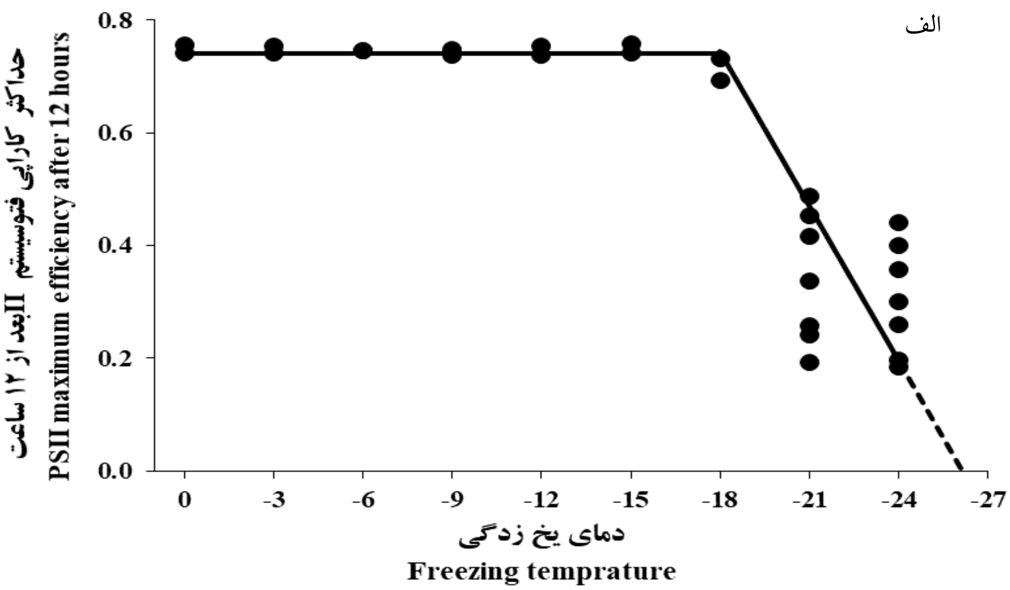
Figure 2- Mean of PSII maximum efficiency in rye ecotypes after durations of freezing stress in controlled conditions. (Each point is mean of 90 observations)

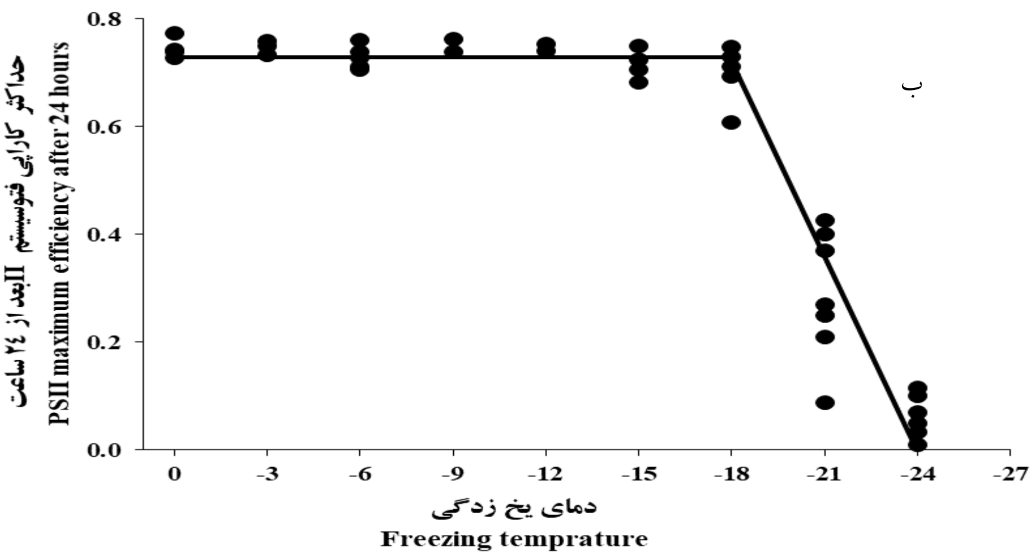
با وجود این پنج روز بعد از اعمال تنش یـخ‌زدگـی در دمـای ۱۲- درجه سانتی‌گراد نسبت F_v/F_m در گیاهان مقـاوم نسـبت بـه گیاهـان حساس افزایش بیشـتری یافـت. ایشـان اظهـار داشـتند کـه کـاهش تدریجی F_v/F_m در دوره بازیـابی در تیمارهـای دمـایی کمتـر از ۱۲- درجه سانتی‌گراد بیانگر تأثیر تنش یخ‌زدگی بـر اخـتلال فعالیـت‌هـای فتوسنتزی گیاه می‌باشد.

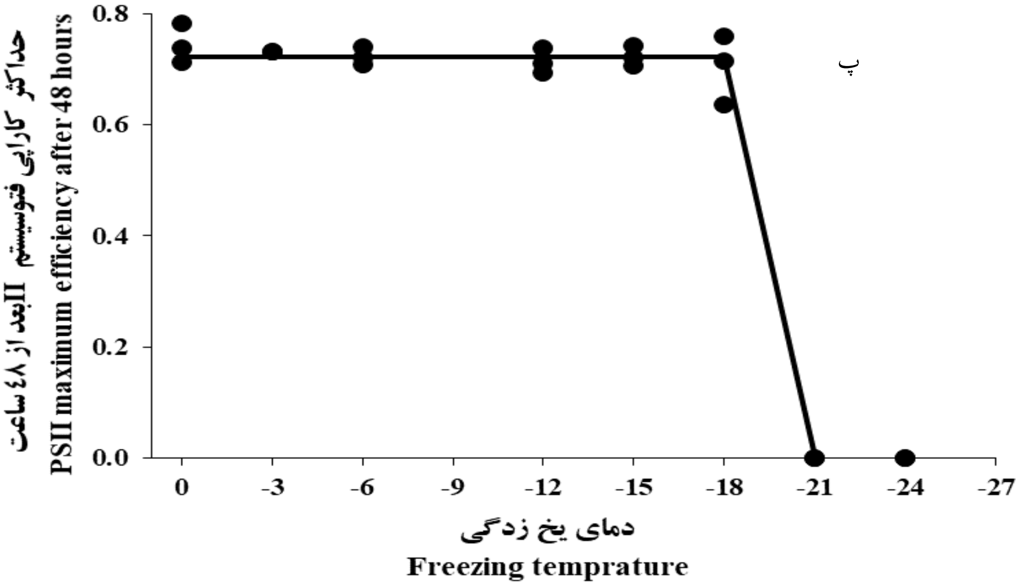
جدول ۲- مقادیر پارامترهای مدل‌های برازش داده شده در شکل ۳

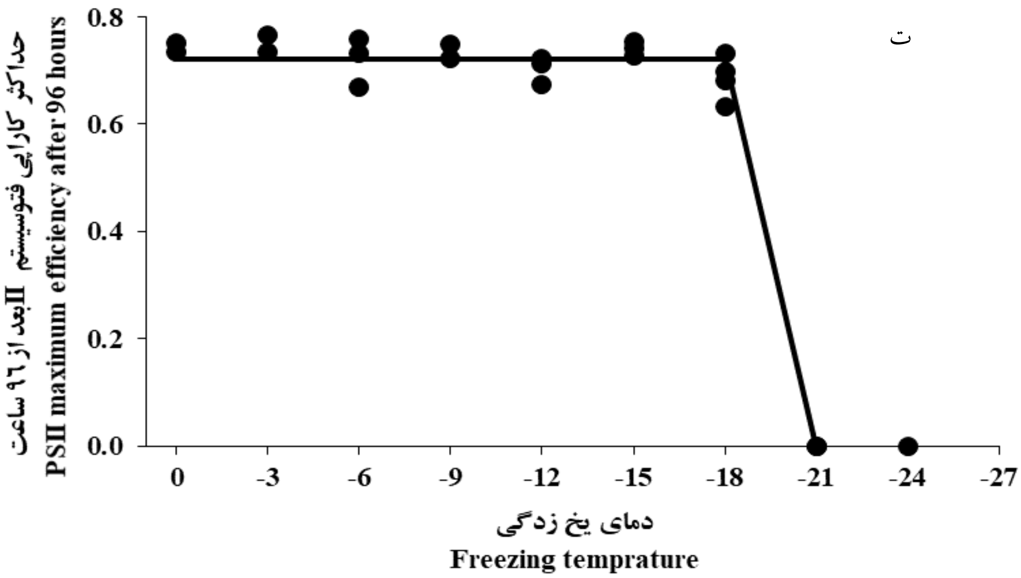
Table 2- Parameters value for fitted models in Fig. 3.

	حداکثر کارآیی	دمای بحرانی (°C)	شیب کاهش	انحراف معیار شیب	دمای حداکثر (°C)
شکل الف	0.7414±0.0161	18.0	-0.092a	0.0175	26.1
شکل ب	0.7285±0.0335	18.0	-0.121b	0.0149	24.0
شکل پ	0.7218±0.0103	18.0	-0.239c	0.0104	21.0
شکل ت	0.7203±0.0349	18.0	-0.243c	0.0110	21.0







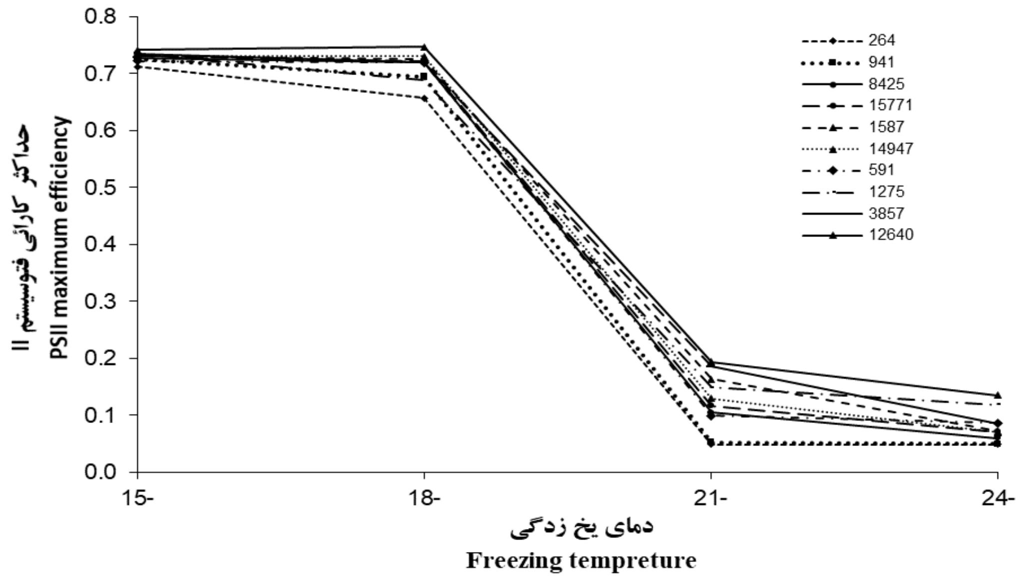


شکل ۳- روند تغییرات حداکثر کارایی فتوسیستم II در اکوتیپ‌های چاودار تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی (درجه سانتی‌گراد) طی زمان‌های اندازه‌گیری ۱۲ (الف)، ٢٤ (ب)، ٤٨ (پ) و ٩٦ (ت) ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده

Figure 3- Trend of PSII maximum efficiency changes in rye ecotypes affected by freezing temperatures (°C) during (a) 12, (b) 24, (c) 48 and (d) 96 hours measuring times after freezing stress in controlled conditions

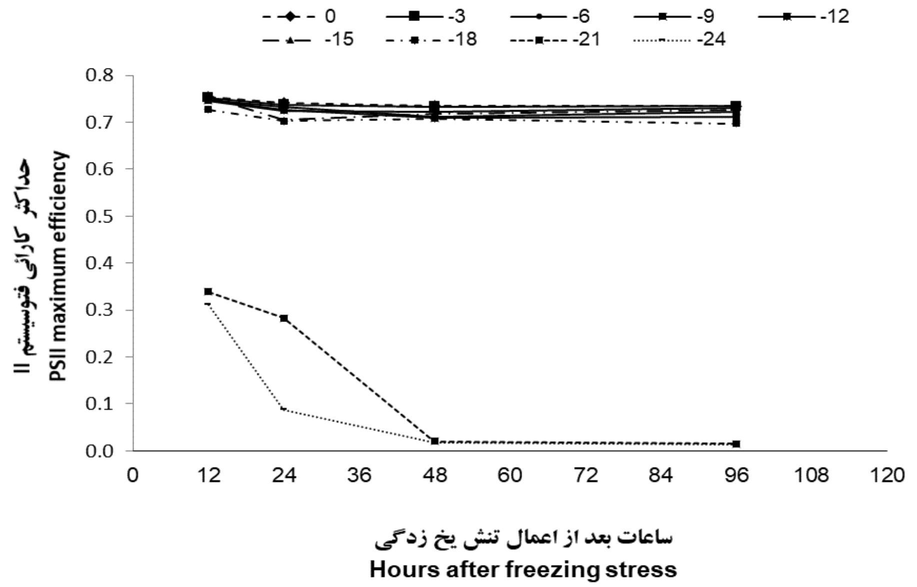
روند اثر دمای یخ‌زدگی بر تغییرات حداکثرکارایی فتوسیستم II در اکوتیپ‌های چاودار نشان داد که از نظر این صفت، در گستره دمایی صفر تا ۱۵- درجه سانتی‌گراد اکوتیپ‌های مورد مطالعه تفاوت چندانی با یکدیگر نداشتند، اما با کاهش بیشتر دما تفاوت بین اکوتیپ‌ها از نظر صفت مذکور بارزتر شده و شیب کاهش حداکثرکارایی فتوسیستم II افزایش یافت (شکل ۴). به‌نظر می‌رسد آستانه بروز خسارت بر حداکثر کارایی فتوسیستم دو در اکوتیپ‌های چاودار در محدوده دمایی ۱۵- تا ۱۸- درجه سانتی‌گراد باشد، زیرا در دماهای یخ‌زدگی شدیدتر، این صفت با شدت بیشتری نسبت به دو دمای ذکر شده، کاهش یافته است. در بررسی روند تغییرات کارایی از دمای ۱۵- تا ۲۴- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد که دو اکوتیپ ۲۶۴ و ۹۴۱ سریع‌ترین شیب کاهش را نسبت به سایر اکوتیپ‌ها داشتند و این روند تا دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد ادامه داشت، در حالی‌که اکوتیپ ۱۲۶۴۰ در گستره دمایی مورد اشاره دارای حداکثر کارایی فتوسیستم II بالاتری نسبت به سایر اکوتیپ‌ها بوده است (شکل ۴). ریزا و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که ژنوتیپ‌های یولاف از نظر کارایی فتوشیمیایی

فتوسیستم II در طی دوره بازیابی پس از تنش یخ‌زدگی متفاوت بودند، به‌طوری‌که در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد حداکثر کارایی فتوسیستم II در ژنوتیپ‌های پاییزه در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد.



شکل ٤- اثر دمای یخ‌زدگی (۱۵- تا ۲٤- درجه سانتی‌گراد) بر حداکثر کارایی فتوسیستم II در اکوتیپ‌های چاودار تحت شرایط کنترل شده

Figure 4- Effect of freezing stress (-15 to -24 ^{o}C) on PSII maximum efficiency in rye ecotype under controlled conditions

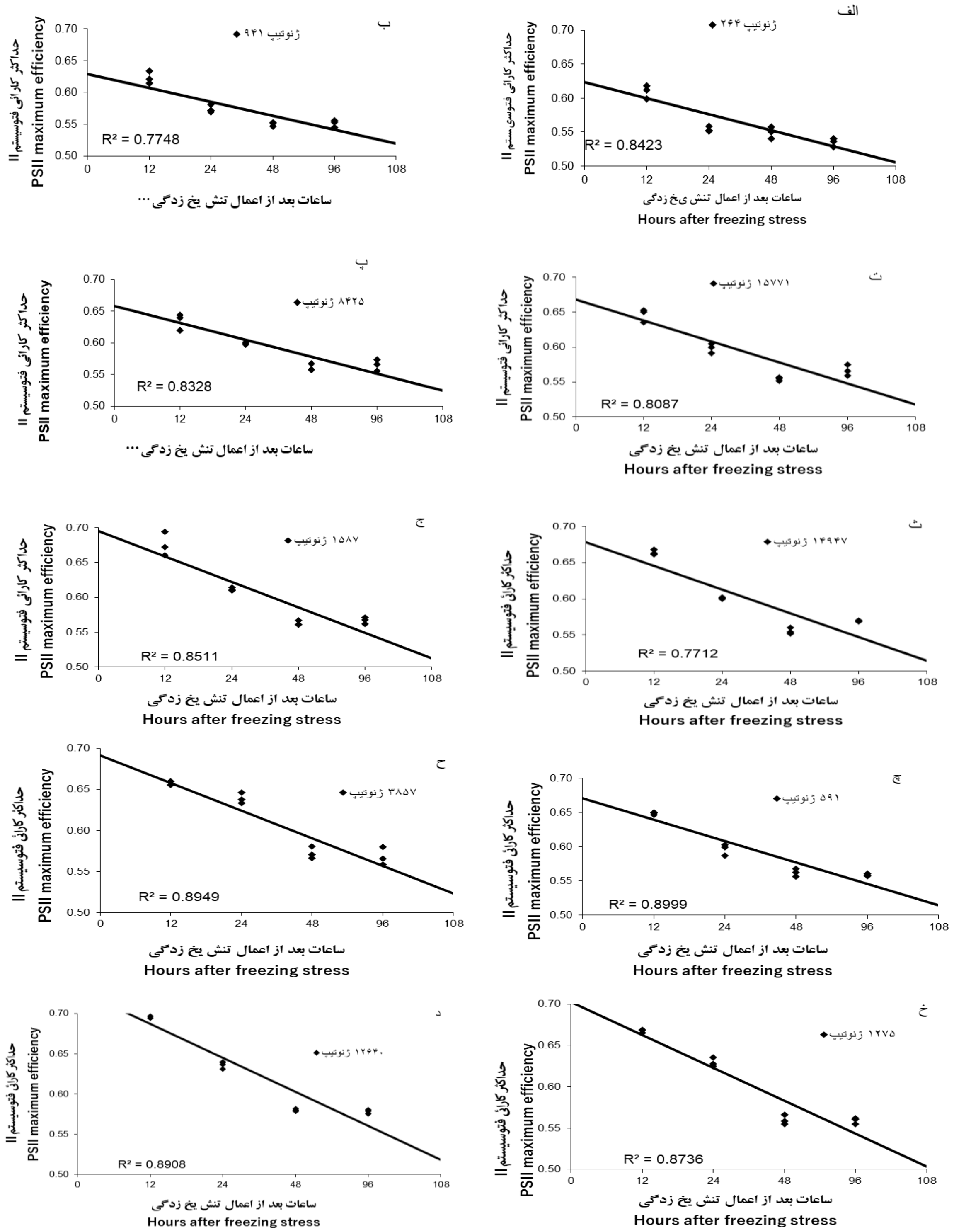


شکل۵- اثر متقابل دمای یخ‌زدگی (درجه سانتی‌گراد) و زمان اندازه‌گیری بر حداکثر کارایی فتوسیستمII اکوتیپ‌های چاودار در شرایط کنترل شده

Figure 5- Interaction of freezing temperature (^{o}C) and measured time on PSII maximum efficiency of rye ecotypes in controlled conditions

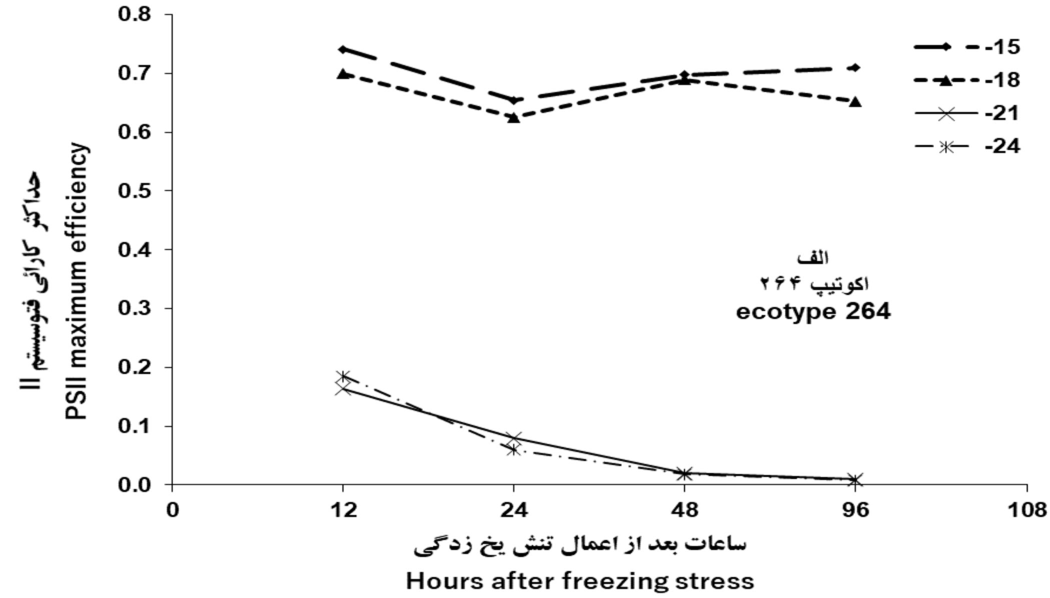
بررسی اثر متقابل دما و زمان بر حداکثر کارایی فتوسیستم II معنی‌دار بود و نشان داد که تا دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در هر چهار زمان اندازه‌گیری، این شاخص تغییرات محسوسی نداشت (شکل ۵)، اما کاهش شدید آن با کاهش دما به ۲۱- و ۲۴- درجه سانتی‌گراد آغاز شد به‌طوری‌که پس از ۴۸ ساعت حداکثر کارایی فتوسیستم II به کمترین مقدار رسید که نشان‌دهنده تأثیر شدید دماهای فوق نسبت به

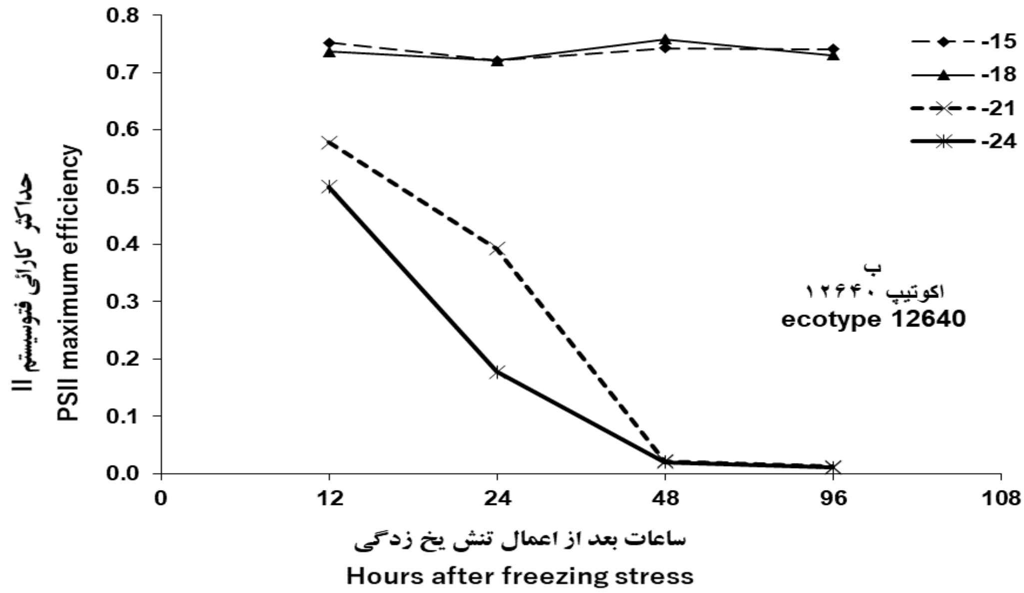
دماهای پایین‌تر بر غشاءهای فتوسنتزی می‌باشد. کاهش حداکثر کارایی فتوسیستم II در اکوتیپ‌های چاودار در زمان‌های پس از تنش یخ‌زدگی بسته به اکوتیپ متفاوت بود (شکل ۶)، به‌طوری‌که بیشترین شدت کاهش در اکوتیپ‌های ۲۶۴ و ۹۴۱ مشاهده شد (شکل ۶، الف و ب) و اکوتیپ ۱۲۶۴۰ شیب کاهشی کمتری داشت (شکل۶، د).



شکل ٦- تغییرات حداکثر کارایی فتوسیستم II در اکوتیپ‌های چاودار در زمان‌های بعد از تنش یخ‌زدگی در شرایط کنترل‌شده

Figure 6- Changes of PSII maximum efficiency in rye ecotypes for the times after freezing stress in controlled conditions



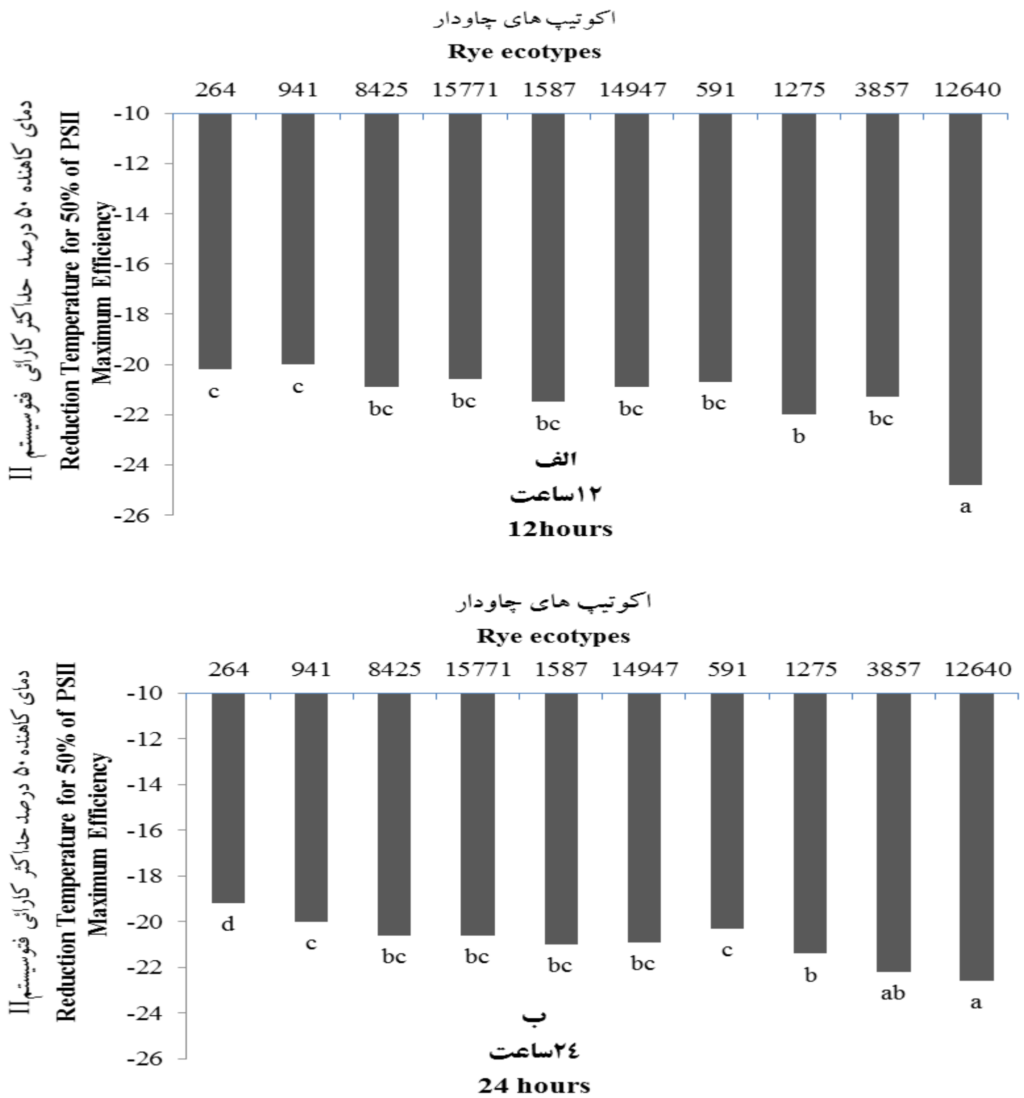


شکل ۷- روند تغییرات حداکثر کارایی فتوسیستم II در دو اکوتیپ ٢٦٤ (الف) و ١٢٦٤٠ (ب) پس از قرار گرفتن در معرض دماهای ١٥-، ١٨-، ٢١- و ٢٤- درجه سانتی‌گراد در شرایط کنترل شده

Figure 7- Trend of PSII maximum efficiency changes in (a) 264 and (b) 12640 ecotypes after exposure to -15, -18, -21 and -24°C in controlled conditions

در بررسی روند تغییرات حداکثر کارایی فتوسیستم II در دو اکوتیپ ۲۶۴ و ۱۲۶۴۰ (که به‌ترتیب کمترین و بیشترین حداکثر کارایی فتوسیستم II را داشتند (شکل ۷ الف و ب) مشاهده شد که دو اکوتیپ مورد بررسی در دماهای ۱۵- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد، اختلاف چندانی با یکدیگر ندارند (شکل ۷، الف و ب). در صورتی‌که در دمای ۲۱- و ۲۴- درجه سانتی‌گراد، اکوتیپ ۱۲۶۴۰ در ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش حداکثرکارایی فتوسیستم II بسیار بالاتری از اکوتیپ دیگر داشت. دای و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که تحمل به یخ‌زدگی در دو رقم جو زمستانه پس از خو سرمایی همبستگی مثبتی با میزان حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II دارد. آنها اظهار داشتند که بلافاصله بعد از تنش یخزدگی در رقم‌های جو تفاوت معنی‌داری بین کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II مشاهده نشد، اما به‌تدریج پس از دو ساعت در اکوتیپ حساس و مقاوم به‌ترتیب ۴۷ و ۴۹ درصد نسبت به تیمار شاهد (تیمار بدون خوسرمایی) کاهش مشاهده شد. پس از ۲۴ ساعت کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در اکوتیپ حساس و مقاوم به‌ترتیب ۶۰ و ۶۵ و بعد از

۷۲ ساعت به ۷۰ و ۸۳ درصد نسبت به شاهد (تیمار بدون خوسرمایی) افزایش نشان داد. راپاکز (۲۰۰۷) نیز بیان کرد که کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ارقام گندم زمستانه در اثر تیمار با دماهای ۶- و ۹- بعد از یک روز نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد اما تحت تأثیر دماهای ۱۲- و ۱۵- سانتی‌گراد به‌صورت نزولی کاهش یافت.



شکل ۸- دمای کاهنده ۵۰ درصد حداکثر کارایی فتوسیستم II در اکوتیپ‌های چاودار طی زمان‌های بعد از تنش یخ‌زدگی (درجه سانتی‌گراد) در شرایط کنترل شده (الف ۱۲ و ب ۲۴ ساعت)

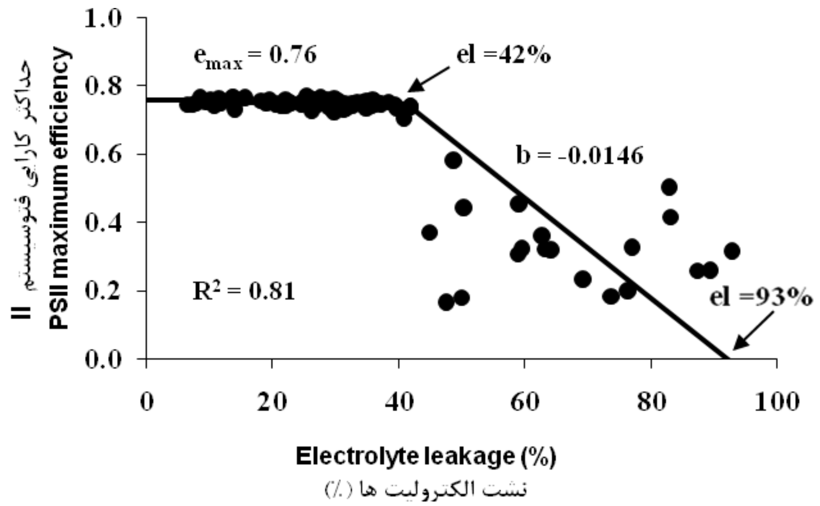
Figure 8- Reduction Temperature for 50% of PSII maximum efficiency of rye ecotypes after freezing stress (^{o}C) times in controlled conditions (a. 12 hours and b. 24 hours)

دمای کاهنده ۵۰ درصد حداکثر کارایی فتوسیستم II[1] اکوتیپ‌های چاودار در زمان‌های مختلف بعد از تنش یخ‌زدگی در (شکل ۸، الف و ب) نشان داده شده است. در ۱۲ ساعت بعد از اعمال تنش یخ‌زدگی بین دمای کاهنده ۵۰ درصد حداکثر کارایی فتوسیستم II اختلاف معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۰۱) وجود داشت (شکل ۸، الف)، به‌طوری‌که در این زمان اکوتیپ ۱۲۶۴۰ در دمای ۲۴/۸- درجه سانتی‌گراد به ۵۰ درصد کاهش حداکثر کارایی فتوسیستم II خود رسید. اکوتیپ ۲۶۴ و ۹۴۱ نیز به‌ترتیب با ۲۰/۲- و۲۰- درجه سانتی‌گراد بالاترین دمای کاهنده ۵۰ درصد حداکثر کارایی فتوسیستم

1- Reduction Temperature for 50% of PSII Maximum Efficiency

II را در زمان ۱۲ ساعت دارا بودند (شکل ۸، الف). در مقایسه با زمان اول اندازه‌گیری، در زمان ۲۴ ساعت بعد از اعمال تنش یخ‌زدگی دمای کاهنده ۵۰ درصد حداکثر کارایی فتوسیستم II در تمامی اکوتیپ‌ها کاهش یافت. در این زمان اکوتیپ‌های ۱۲۶۴۰ و ۳۸۵۷ به‌ترتیب با ۲۲/۶- و ۲۲/۲- درجه سانتی‌گراد کمترین دمای کاهنده ۵۰ درصد حداکثر کارایی فتوسیستم II را دارا بودند و اکوتیپ ۲۶۴ نیز با ۱۹/۲- درجه سانتی‌گراد دمای کاهنده ۵۰ درصد حداکثر کارایی فتوسیستم II را داشت (شکل ۸، ب). دمای کاهنده ۵۰ درصد حداکثر کارایی فتوسیستم II در زمان ۴۸ و ۹۶ ساعت بعد از اعمال تنش یخ‌زدگی نیز به‌دلیل صفر شدن حداکثر کارایی فتوسیستم II محاسبه نشد. گران و بویر (۱۹۹۰) در آزمایشی مقاومت به سرمازدگی در گل رز (*Rosa hybrida*) را با استفاده از حداکثر کارایی فتوسیستم II ارزیابی و گزارش کردند که اندازه‌گیری حداکثر کارایی فتوسیستم II یک روش سریع در به‌گزینی ژنوتیپ‌ها برای حساسیت به سرمازدگی در اصلاح گیاهان است. نتایج آنها نشان داد که روش اندازه‌گیری حداکثر کارایی فتوسیستم II همچنین می‌تواند در برگ‌های جدا نشده از گیاهان درون شیشه‌ای بدون صدمه به گیاهان مورد استفاده قرار گیرد.

افزایش نشت الکترولیت‌ها تا ۴۰ درصد، تأثیر چندانی بر حداکثر کارایی فتوسیستم II در ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی نداشت و افزایش بیشتر درصد نشت الکترولیت‌ها سبب کاهش این شاخص شد (شکل ۹). با توجه به روند کاهش حداکثر کارایی فتوسیستم II، به نظر می‌رسد عوامل دیگری، نظیر تنوع اکوتیپ‌های چاودار از نظر خسارت تنش سرما بر غشاءهای سلولی، در این روند مؤثر بوده است. حداکثر کارایی فتوسیستم II با درصد بقاء همبستگی مثبتی ($r = 0.80^*$) داشت (شکل ۱۰). از این رو به نظر می‌رسد که بتوان با اندازه‌گیری حداکثرکارایی فتوسیستم II ۱۲ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی به پتانسیل گیاه در تحمل به تنش یخ‌زدگی پی برد. از آن‌جایی‌که آزمون نشت الکترولیت‌ها ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی انجام شد، لذا به نظر می‌رسد اندازه‌گیری شاخص حداکثر کارایی فتوسیستم II ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی باعث افزایش سرعت آزمون و تشخیص سریع‌تر اثرات تنش بشود. همبستگی بالای درصد بقا گیاهان با شاخص حداکثر کارایی فتوسیستم II ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی نیز بیانگر این است که شاخص حداکثر کارایی فتوسیستم II به‌عنوان یک شاخص غیر تخریبی از پتانسیل خوبی در تخمین اثرات دراز مدت تنش یخ‌زدگی بر گیاه برخوردار است. این شاخص (درصد بقا) که پس از ۲۱ روز از اعمال تنش یخ‌زدگی اندازه‌گیری شد، به‌عنوان یکی از مهمترین شاخص‌های تحمل گیاهان به تنش سرما مطرح می‌باشد و لذا به نظر می‌رسد که شاخص حداکثر کارایی فتوسیستم II توانایی مناسبی را برای تخمین تحمل به یخ‌زدگی چاودار فراهم کرده است.



شکل ۹- رابطه بین حداکثر کارایی فتوسیستم II ۱۲ ساعت بعد از تنش یخ‌زدگی و نشت الکترولیت‌ها در اکوتیپ‌های چاودار

Figure 9- Relationship between PSII maximum efficiency after 12 hours exposure to freezing stress and electrolyte leakage in rye ecotypes

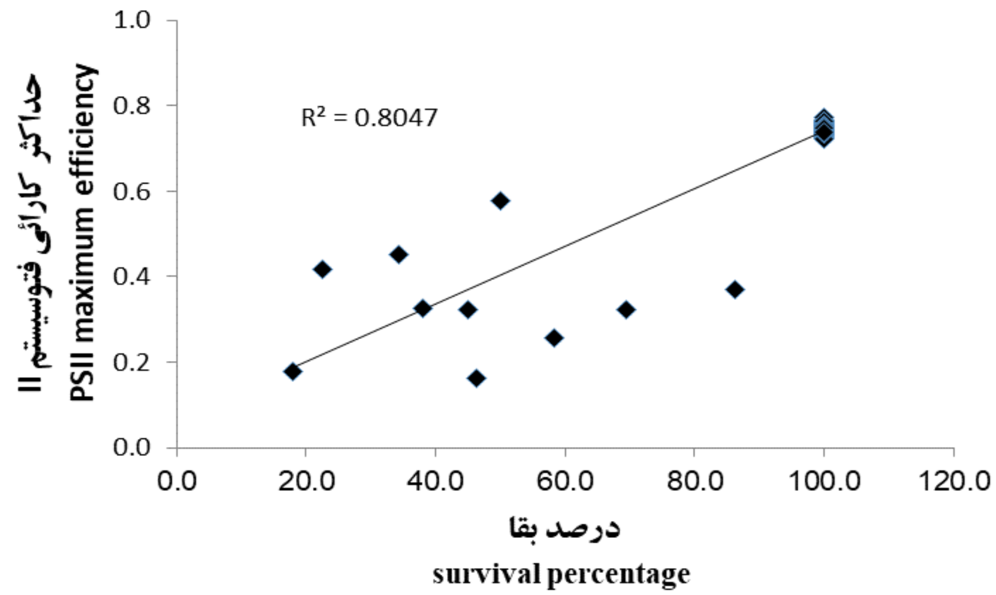
نتیجه‌گیری

در این آزمایش کلیه اکوتیپ‌های چاودار تا دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد مقاومت خوبی را نسبت به تنش یخ‌زدگی نشان دادند و با وجود اینکه با کاهش بیشتر دما حداکثر کارایی فتوسیستم II در تمامی اکوتیپ‌ها به شدت کاهش یافت، اما شیب کاهش حداکثر کارایی

فتوسیستم II تا دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد بسته به اکوتیپ متفاوت بود. بر اساس شاخص حداکثر کارایی فتوسیستم II اکوتیپ ۲۶۴ حساس‌ترین و اکوتیپ ۱۲۶۴۰ متحمل‌ترین اکوتیپ به تنش یخزدگی بودند. همبستگی مناسب بین حداکثر کارایی فتوسیستم II با درصد نشت الکترولیت‌ها و همچنین درصد بقا نشان‌دهنده پتانسیل مناسب این شاخص برای تشخیص سریع‌تر ارقام حساس و مقاوم به تنش یخزدگی می‌باشد.

سپاسگزاری

بودجه این تحقیق از محل اعتبارات معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تأمین شده است که بدین‌وسیله سپاسگزاری می‌گردد. از آقای دکتر مهدی نصیری محلاتی نیز به خاطر راهنمایی‌های ارزنده قدردانی می‌شود.



شکل ۱۰- رابطه بین حداکثر کارایی فتوسیستم II ۱۲ ساعت بعد از تنش یخزدگی و درصد بقای اکوتیپ‌های چاودار

Figure 10- Relationship between PSII maximum efficiency after 12 hours exposure to freezing stress and survival percentage of rye ecotypes

References

1. Behnia, M. 1994. Cold season cereals. Tehran University Pub.
2. Binder, W. D., and Fielder, P. 1996. Chlorophyll fluorescence as an indicator of frost hardiness in white spruce seedlings from different latitudes. New Forests 11 (3): 233-253.
3. Dai, F., Zhou, M., and Zhang, G. 2007. The change of chlorophyll fluorescence parameters in winter barley during recovery after freezing shock and as affected by cold acclimation and irradiance. Plant Physiology and Biochemistry 45 (12): 915-921.
4. Fowler, D. B., Breton, G., Limin, A. E., Mahfoozi, S., and Sarhan, F. 2001. Photoperiod and temperature interactions regulate low-temperature-induced gene expression in barley. Journal of Plant Physiology 127 (4): 1676-1681.
5. Francia, E., Rizza, F., Cattivelli, L., Stanca, A. M., Galiba, G., Toth, B., Hayes, P. M., Skinner, J. S., and Pecchioni, N. 2004. Two loci on chromosome 5H determine low-temperature tolerance in a ‘Nure’ (winter) ×‘Tremois’ (spring) barley map. Theoretical and Applied Genetics 108 (4): 670-680.
6. Graan, T., and Boyer, J. S. 1990. Very high CO_2 partially restores photosynthesis in sunflower at low water potentials. Planta 181 (3): 378-384.
7. Hakam, N., De Ell, J. R., Khanizadeh, S., and Richer, C. 2000. Assessing chilling tolerance in roses using chlorophyll fluorescence. HortScience 35 (2): 184-186.
8. Ingram, J., and Bartels, D. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Journal of Annual review of plant biology 47 (1): 377-403.
9. Jalilian, A., Mazaheri, D., Tavakol Afshari, R., Abdolahian, M., Rahimian, H., and Ahmai, M. 2008. Effect of

freezing damage during seedling stage on diferent species of sugar beet. Journal of Crop science 4: 400-415.

10. Liang, Y., Chen, H., Tang, M. J., Yang, P. F., and Shen, S. H. 2007. Responses of *Jatropha curcas* seedlings to cold stress: photosynthesis-related proteins and chlorophyll fluorescence characteristics. Physiologia Plantarum 131 (3): 508-517.
11. Mahfoozi, S., Hosein Salkadeh, G., Mardi, M., and Karimzadeh, G. 2008. 10^{th} crop and plant breeding. Karaj. 100-108.
12. Mam, J., and Philip, R. 1996. Chlorophyll Fluorescence as a Parameter for Frost Hardiness in Winter Wheat. A Comparison with other Hardiness Parameters. Phyton. 36: 45-56.
13. Maxwell, K., and Johnson, G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence_a practical guide. Journal of experimental botany 51 (345): 659-668.
14. Mena-Petite, A., Muñoz-Rueda, A., and Lacuesta, M. 2005. Effect of cold storage treatments and transplanting stress on gas exchange, chlorophyll fluorescence and survival under water limiting conditions of *Pinus radiata* stock-types. European Journal of Forest Research 124 (2): 73-82.
15. Neuner, G., and Buchner, O. 1999. Assessment of foliar frost damage: a comparison of in vivo chlorophyll fluorescence with other viability tests. Journal applicate Botany 73: 50-54.
16. Nezami, A., Borzouei, A., Jahani, M., Azizi, M., and Sharif, A. 2007. Elecrolite leakage as an index of freezing damage in Rapeseed. Journal of Crop Reseaches of Iran. 1: 167-175.
17. Nourmohamadi, Q., Siadat, S. A., and Kashani, A. 1998. Cereal cropping. Shahid Chamran University Pub.
18. Percival, G. C. and Henderson, A., 2003. An assessment of the freezing toleran ce of urban trees using chlorophyll fluorescence. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 78 (2): 254-260.
19. Rapacz, M. 2007. Chlorophyll a fluorescence transient during freezing and recovery in winter wheat. Photosynthetica 45 (3): 409-418.
20. Rapacz, M., Tyrka, M., Kaczmarek, W., Gut, M. Wolanin, B., and Mikulski, W. 2008. Photosynthetic acclimation to cold as a potential physiological marker of winter barley freezing tolerance assessed under variable winter environment. Journal of Agronomy and Crop Science 194 (1): 61-71.
21. Rizza, F., Pagani, D., Stanca, A. M., and Cattivelli, L. 2001. Use of chlorophyll fluorescence to evaluate the cold acclimation and freezing tolerance of winter and spring oats. Plant Breeding 120 (5): 389-396.

Maximum Efficiency of Photosystem II as a Freezing Stress Index in Perennial Ecotypes of Rye (*Secale Montanum*)

A. Nezami[1*]- S. Khaninejad[2]- M. R. Bahrami[2]- H. Zarif Ketabi[2]

Received: 01-02-2015
Accepted: 25-12-2016

Introduction

Chlorophyll fluorescence measuring is a quick and undestructive method, which is used as an important index to identify stress tolerant varieties for environmental stresses such as freezing. Rye planting is less prevalent comparing to other cool season cereals, but more investigations are needed because of suitable potentials in this crop for growing in cold area of Iran. In addition, low temperatures decrease physiological functions of plants and results in irreversible damages and disorders in physiological process of plants.

Material and Methods

In order to study the possibility of using the chlorophyll fluorescence parameters for evaluation of freezing tolerance in perennial rye ecotypes, an experiment was performed using a factorial experiment based on completely randomized design with three replications at Agricultural Faculty of Ferdowsi University of Mashhad. Ten rye ecotypes (264, 941, 8425, 15771, 1587, 14947, 591, 1275, 3857 and 12460) were exposed to nine freezing temperatures (0 (control), -3, -6, -9, -12, -15, -18, -21 and -24°C) and maximum efficiency of photosystem II (ME of PII) were measured four times (12, 24, 48 and 96 hours) after freezing. Correlation between ME of PII with Electrolyte Leakage percentage (EL %) and survival percentage (SU %) were tested.

Results and Discussion

The results indicated that there was a significant difference among rye ecotypes for ME of PII, while ecotype 12640 had the highest ME of PII and the lowest efficiency was observed in ecotype 264. There was no difference in ME of PII among rye ecotypes until to -18 °C, but ME of PII decreased in -21°C and -24°C after 12 to 24 hours recovery period. This efficiency was zero in -24°C during 48 and 96 hours after recovery, while ME of PII did not get to zero in this temperature during 12 and 24 hours after stress. ME of PII impairment by freezing temperatures was similar in 48 and 96 hours and it seems that no changes happened in the efficiency after 48 hours. There was a rapid reduction in slope of efficiency from -15°C to -24°C in 264 and 941 ecotypes than the other ecotypes, while ecotype 12640 had the highest ME of PII than the other ecotypes in mentioned temperature range. In the four measuring times, ME of PII was not reduced until -18°C, but it was severely decreased by temperature reductions to -21°C and -24°C, as ME of PII decreased to the lowest value after 48 hours. Decreasing the ME of PII in rye ecotypes was different due to the ectypes in the times after freezing stress, the most reduction was observed in 264 and 941ecotypes and ecotype 12640 had less decrease in the slope of ME of PII. There were differences among rye ecotypes in reduction temperature for 50% of ME of PII; while ecotype 12640 get reduction temperature for 50% of ME of PSII in -24.8°C 12 hours after freezing stress; and ecotypes 264 and 941 had the highest reduction temperature of 50% ME of PII in -20.2 °C and -20 °C, respectively. Reduction temperature for 50% of ME of PII decreases in 24 hours after freezing stress; at this time, 12640 and 3857 ecotypes showed the lowest reduction temperature for 50% of ME of PII by -22.6°C and -22.2°C, respectively, and 264 ecotype had the highest reduction temperature for 50% of ME of PII by -19.2°C. There were significant correlations between ME of PII, EL% and SU%. Since EL test was conducted 24 hours after freezing stress, it seems that measuring ME of PII in 12 hours after freezing stress increases quickness in test and determining the stress effects rapidly. Higher correlations between plants survival percentage with ME of PII 12 hours after freezing stress, indicate that ME of PII is a non-destructive factor for estimating long term effects of freezing stress on rye plants. In conclusion, the mentioned factors can be used as a quick procedure to identify cold tolerant plants.

Keywords: Chlorophyll florescence, Electrolyte, Freezing tolerance, Survival percentage

1- Professor, Collage of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
2- PhD. in Crop physiology, Ferdowsi University of Mashhad
(*- Corresponding Author Email: nezami@um.ac.ir)